

W1796-01

SPHERICAL MICROPARTICLES CONTAINING LINEAR POLYSACCHARIDES






Patent number: WO9911695
Publication date: 1999-03-11
Inventor: BENGS HOLGER (DE); GRANDE JUERGEN (DE); SCHNELLER ARNOLD (DE); BOEHM GITTE (DE)
Applicant: AVENTIS RES & TECH GMBH & CO (DE); BENGS HOLGER (DE); GRANDE JUERGEN (DE); SCHNELLER ARNOLD (DE); BOEHM GITTE (DE)
Classification:
- international: C08J3/14; A61K9/16; C08L3/12; C08L5/00
- european: A61K9/16H6F; C08J3/14
Application number: WO1998EP05297 19980820
Priority number(s): DE19971037481 19970828

Also published as:

 EP1012204 (A1)
 US6703048 (B1)
 DE19737481 (A1)
 CA2302346 (A1)
 EP1012204 (B1)

more >>

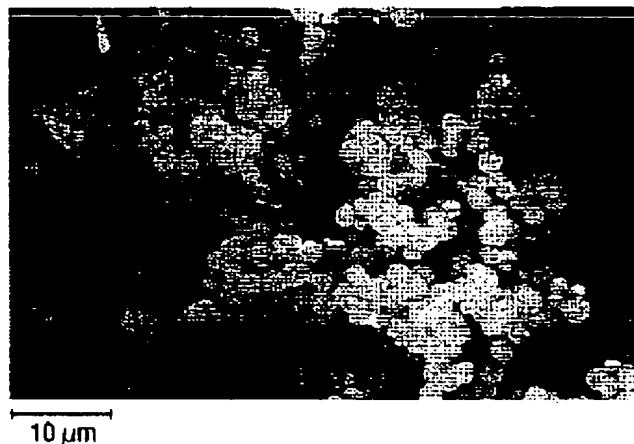
Cited documents:

 GB2247242
 DE4120760
 EP0648115
 WO8808011
 EP0476063
more >>

Report a data error here

Abstract of WO9911695

The invention relates to microparticles having a uniform spherical shape and showing a very narrow dimensional distribution. These microparticles are fully or partly composed of a linear water insoluble polysaccharide, preferably 1,4- α -D-polyglucan, and they can contain other, preferably biodegradable, polymers and/or active ingredients. They can, inter alia, be used for the controlled release of active ingredients. They are produced by dissolving the 1,4- α -D-polyglucan or said polysaccharide in a solvent, mixing the solution with a precipitating agent, cooling the mixture and separating the formed particles.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

BEST AVAILABLE COPY

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2001-514315
(P2001-514315A)

(43) 公表日 平成13年9月11日 (2001.9.11)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード* (参考)
C 0 8 J 3/14	CEP	C 0 8 J 3/14	4 C 0 7 6
A 6 1 K 9/16		A 6 1 K 9/16	4 F 0 7 0
// C 0 8 L 3/02		C 0 8 L 3/02	4 J 0 0 2
3/12		3/12	
5/00		5/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 25 頁)			

(21) 出願番号 特願2000-508724(P2000-508724)
 (86) (22) 出願日 平成10年8月20日 (1998.8.20)
 (85) 翻訳文提出日 平成12年2月28日 (2000.2.28)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP98/05297
 (87) 国際公開番号 WO99/11695
 (87) 国際公開日 平成11年3月11日 (1999.3.11)
 (31) 優先権主張番号 197 37 481.6
 (32) 優先日 平成9年8月28日 (1997.8.28)
 (33) 優先権主張国 ドイツ (DE)
 (81) 指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), AU, CA, CN, CZ, HU, JP, KR, NO, NZ, PL, US

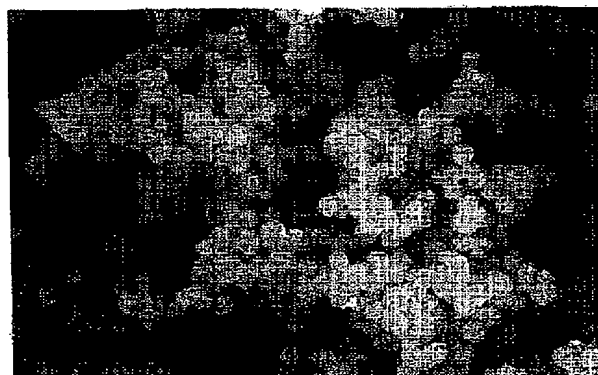
(71) 出願人 アヴェンティス・リサーチ・ウント・テクノロジー・ゲーエムベーハー・ウント・コー・カーゲー
 ドイツ連邦共和国デー-65926 フランクフルト・アム・マイン
 (72) 発明者 ベングス, ホルガー
 ドイツ連邦共和国デー-60598 フランクフルト・アム・マイン, ピンディングシュトラッセ 3
 (72) 発明者 グランデ, ユルゲン
 ドイツ連邦共和国デー-65812 パート・ゾーデン, アム・ヒューベンブッシュ 36
 (74) 代理人 弁理士 社本 一夫 (外5名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 球状の線状多糖類含有微粒子

(57) 【要約】

均一な球状の形状及び非常に狭い粒度分布を有する微粒子が、記載される。それらは、線状の水不溶性多糖類、好ましくは1, 4- α -D-ポリグルカンから全体的に又は部分的に成り、そして他の特に、生分解性ポリマー及び/又は活性物質を含有できる。それらは、活性物質の放出制御のために特に適している。それらは、1, 4- α -D-ポリグルカン又は多糖類を溶媒に溶解し、その溶液を沈殿剤中に導入し、混合物を冷却し次いで形成した粒子を取り出すことにより製造される。



10 μm

Abbildung 1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 少なくとも1種の水不溶性の線状多糖類から全体的に又は部分的に成る、平均直径1 nm～100 μ mを有する球状微粒子。

【請求項2】 生物工学的プロセスで製造された少なくとも1種の水不溶性の線状多糖類から全体的に又は部分的に成る、平均直径1 nm～100 μ mを有する球状微粒子。

【請求項3】 生体触媒プロセスにより製造された少なくとも1種の水不溶性の線状多糖類から全体的に又は部分的に成る、請求項2記載の平均直径1 nm～100 μ mを有する球状微粒子。

【請求項4】 発酵プロセスにより製造された少なくとも1種の水不溶性の線状多糖類から全体的に又は部分的に成る、請求項2記載の平均直径1 nm～100 μ mを有する球状微粒子。

【請求項5】 全体的に又は部分的に1, 4- α -D-ポリグルカンから成る、請求項1記載の球状微粒子。

【請求項6】 1, 4- α -D-ポリグルカンが、多糖類シンターゼを用いる生体触媒プロセスにより製造された、請求項5記載の球状微粒子。

【請求項7】 1, 4- α -D-ポリグルカンが、デンプンシンターゼを用いる生体触媒プロセスにより製造された、請求項5記載の微粒子。

【請求項8】 1, 4- α -D-ポリグルカンが、グリコシルトランスフェラーゼを用いる生体触媒プロセスにより製造された、請求項5記載の微粒子。

【請求項9】 1, 4- α -D-ポリグルカンが、 α -1, 4-グルカントランスフェラーゼを用いる生体触媒プロセスにより製造された、請求項5記載の微粒子。

【請求項10】 1, 4- α -D-ポリグルカンが、グリコーゲンシンターゼを用いる生体触媒プロセスにより製造された、請求項5記載の微粒子。

【請求項11】 1, 4- α -D-ポリグルカンが、アミロスクラーゼを用いる生体触媒プロセスにより製造された、請求項5記載の微粒子。

【請求項12】 1, 4- α -D-ポリグルカンが、ホスホリラーゼを用いる生体触媒プロセスにより製造された、請求項5記載の微粒子。

【請求項13】 線状多糖類が、枝分かれした又は高度に枝分かれした多糖類の酵素処理により製造された、請求項1記載の微粒子。

【請求項14】 平均直径100nm～10 μ m、好ましくは1～3 μ mを有する請求項1～13の少なくとも1項に記載の微粒子。

【請求項15】 狭い粒子径分布(分散度)を有する、請求項1～14の少なくとも1項に記載の微粒子。

【請求項16】 粒子径の分散度 d_n に対する d_w が、1.0～10.0、好ましくは1.5～5.0、特に2.0～2.6である、請求項15記載の微粒子。

【請求項17】 更に1種又はそれ以上の、好ましくは生分解性ポリマーを含んで成る、請求項1～16の少なくとも1項に記載の微粒子。

【請求項18】 更に1種又はそれ以上の活性物質を含んで成る、請求項1～17の1項又はそれ以上の項に記載の微粒子。

【請求項19】 少なくとも1種の水不溶性の線状多糖類、特に1,4- α -D-ポリグルカンから全体的に又は部分的に成る球状微粒子の製造方法であって、水不溶性の線状多糖類又は1,4- α -D-ポリグルカンを溶媒に溶解し、その溶液を沈殿剤中に導入し、それから生じた混合物を冷却し、次いで形成した微粒子を取り出す、前記球状微粒子の製造方法。

【請求項20】 溶液及び沈殿剤を、20～50℃の温度で混合し、次いで混合物を+10～-10℃、好ましくは5～-5℃の温度に冷却する、請求項19記載の方法。

【請求項21】 ジメチルスルホキシドを溶媒として用いる、請求項19又は20記載の方法。

【請求項22】 水又は水性媒質を沈殿剤として用いる、請求項19～21の少なくとも1項に記載の方法。

【請求項23】 1種又はそれ以上のポリマー、特に生分解性ポリマー及び／又は1種又はそれ以上の活性物質の存在下で溶液を製造する、請求項19～22の少なくとも1項に記載の方法。

【請求項24】 活性物質の放出制御のための請求項1～18の少なくとも

1項に記載の微粒子の又は請求項19～23の少なくとも1項に記載の方法により製造される微粒子の使用。

【請求項25】 粒度を決定するための標準品として請求項1～18の少なくとも1項に記載の微粒子の又は請求項19～23の少なくとも1項に記載の方法により製造される微粒子の使用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、線状多糖類を含有する球状の微粒子(microparticles)、それらの製造方法及び特に活性物質の放出制御のためのそれらの使用に関する。

【0002】

多様の用途のための粒子、特に例えば多糖類のようなポリマーから微粒子を製造する方法は、種々のパラメーターに正確に従うことを要求するかなり複雑な方法である。特に、多くの方法は、単に低い収率及び非常に広い粒子分布(particle distributions)しかもたらない。これに関して特に噴霧乾燥、界面縮合及び乳化プロセス(例えばWOプロセス=油中水型エマルジョン、WOW=水中油中水型エマルジョン、コアセルベーション、相分離、分散)において言及がなされるべきである。乳化プロセス、特に二相系からの噴霧乾燥も非常に正確な手順を要求しそして大抵の場合、助剤(乳化剤)の使用を要求する。安定なエマルジョンは、しばしば多大な費用でかつ多数のパラメーター(温度、攪拌速度など)の正確な制御でのみ製造でき、そして粒子の包括的な取り出しは、問題をもたらす。粒子の収率は、しばしば非常に低くそして特に、閉じ込められる活性物質の割合が不適当である。これは、高価な医薬用活性物質の場合における技術の適用を妨げるかもしれない面である。

【0003】

酒石酸含有重縮合体に加えて、エチルデンプン又は他の多糖類も含有できる球状微粒子が、米国審査済登録特許(US-A)第5391696号に従い、一方では噴霧乾燥法により得られるが、しかしこれに関して粒度そして特に、粒度分布が非常に困難さを伴ってのみ制御できる。この特許で記載されたもう1つの可能性は、ポリマーを溶媒又は溶媒混合物に溶解しそして球状の粒子の形成を伴いながら、溶液を冷液化ガス、例えば液体窒素に1滴ずつ添加することである。次いで、小さなビーズを水に導入でき、そしてそれは同時にポリマーを沈殿させ次いで溶媒を抽出する。この方法は、時間がかかり、費用が多くかかりそして不経済である。粒子径の均一性も不満足である。

【0004】

欧州審査済登録特許第0251476号は、高分子のポリペプチドが分散しているポリラクチド(poly lactides)からの微粒子の製造を記載している。多様のパラメーターの集中的な制御が、この場合も必要である。均一な球状粒子は、得られない。

【0005】

活性物質及び気体を含む微粒子が、国際出願の国際公開(WO)95/07072に記載されている。製造は、念に入りな乳化プロセスにより行われ、そして粒子の粒度分布は、非常に不均一である。

【0006】

Yu Jiugao及びLiu Jieは、デンプンのマイクロビーズ(microbeads)の大きさに関する懸濁架橋反応条件の効果についてstarch/staerke 46(7)252-5(1994)において報告している。架橋は、3段階で行われる；媒質は、油中水型懸濁液であり、そして落花生油／トルエン混合物を油相として用いる。予備ゲル化したデンプンを、水酸化ナトリウム及びエチレンジアミン四酢酸も含む水溶液として添加する。界面活性剤又は安定剤の存在も必要である。

【0007】

そこで記載されるプロセスの欠点は、結果が多数の因子、即ち密度、粘度及び油相と水相の両方の濃度割合、安定剤と攪拌速度に依存することであり、そして加えて安定剤の存在が、欠点である。更に、与えられた多数のパラメーターを制御することが困難であり、その結果再現性が不満足である。

【0008】

欧州審査済登録特許第0204476号の開示に従い、高分子の活性物質が入れられそしてポリ乳酸又はエチルセルロースのような水不溶性ポリマーから構成される粒子が、粒状の活性物質をポリマーのアセトン溶液に懸濁し、次いで溶媒を室温で蒸発させることにより得られる。この場合に得られる粒子は、必要な薬理効果を未だ示さず、その結果いわゆるペレットへの更なる加工が必要である。

【0009】

球状の形状を有する微粒子及びそれらの製造方法は、既知であるが、改良された性質を有するそのような微粒子に対する要求、そしてより有利な、特に経済的

でかつ容易に再現可能な製造方法に対する要求が、未だ存在する。従って、本発明の目的は、実質的に規則正しい球状の形状を有しそして加えて可能な限り狭い、即ち非常に均一な粒度分布を示し、そして多くの目的に対して使用できる微粒子を提供することにある。本発明のもう1つの目的は、実施するのに簡単でかつ経済的でありそして、良好な機械的性質を有し、生分解性であり、多様の活性物質に与えることのでき、そして特に活性物質の放出制御に適した、規則正しい構造及び非常に均一性である微粒子を与えるそのような微粒子を製造する方法を提供することにある。

【0010】

この目的は、少なくとも1種の水不溶性の線状多糖類から全体的に又は部分的に成る、平均直径1nm～100 μ mを有する球状微粒子によって達成される。

【0011】

球状微粒子は、ほとんど球状の形状を有する微粒子を意味する。もしも球体が、共通の原点から空間中に方向付けされた同じ長さの軸により表現されそして球体の半径を空間内の全ての方向に定めるならば、軸の長さは球状の微粒子に対して、理想の球状の形状から1%～40%だけ外れることができる。25%までの、特に好ましくは15%までの偏差を有する球状の微粒子が、好ましく得られる。

球状微粒子の表面は、ラズベリーのそれと顕微鏡的に比較でき、次のように意図される；即ち、“くぼみ”又は“押し込み”は、球状微粒子の平均直径の20%以下である。

【0012】

本発明の目的に対する“線状の水不溶性多糖類”は、単糖類、二糖類又は他の単量体形成ブロックが同じ方法で常に一緒に結合される、そのような方法で単糖類、二糖類、又は他の単量体形成ブロックから構成される多糖類である。各々の基本単位又はこのように規定される構成単位は、正確に2個の結合を有し、各々の場合もう1つのモノマーに対するものである。これに対する例外は、多糖類の開始から末端を形成する2個の基本単位である。これらの基本単位は、もう1つのモノマーに対するただ1個の結合を有する。3個の結合（共有結合）が存在す

るとき、枝分かれが存在すると言われている。本発明の目的に対して線状の水不溶性多糖類は、枝分かれを有しないか、又は多くても僅か少量程度であり、その結果非常に小さい割合の枝分かれに関してそれらは、通常の方法に利用可能でない。

【0013】

語句“水不溶性多糖類”は、クラス4～7に相当する、ドイツ薬局方 (DAB=Deutsches Arzneibuch Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, Goviverlag GmbH, Frankfurt, 第9版、1987) に定義されるように、‘やや溶けにくい(sparingly soluble)’、‘溶けにくい(slightly soluble)’、‘極めて溶けにくい(very slightly soluble)’、そして‘殆ど溶けない(practically insoluble)’化合物の範疇に入る化合物に対して意味する。

【0014】

本発明の範囲内において、生物工学の、特に生体触媒の、また生物変換、又は発酵プロセスで製造された線状の水不溶性多糖類が好ましい。

【0015】

本発明の範囲内の生体触媒(また：生物変換)により製造される線状多糖類は、線状多糖類が、いわゆる生体触媒、通常は酵素を適当な条件下で用いることにより、例えば単糖類及び／又は二糖類のオリゴマー糖類(oligomeric saccharide s)のような単量体の基本形成ブロックの触媒反応により製造される。

【0016】

発酵からの線状多糖類は、本発明の述語において、天然の生物体、例えば菌類、藻類又は細菌を用い又は非天然の生物体を用い、しかし一般に規定されるような遺伝子工学法により改質された天然の生物体、例えば菌類、藻類又は細菌の助成により得られるか、又は発酵プロセスを伴うこと及び発酵プロセスの助成により得ることができる線状多糖類である。

【0017】

本発明に係る線状ポリマーは、好ましい1, 4- α -D-ポリグルカンに加えて、他のポリグルカン又は他の線状多糖類、例えばプルラン、ペクチン、マンナン又はポリフルクタン(polyfructans)であってよい。

【0018】

更に、枝分かれを含む非線状多糖類を、枝分かれの切断が生じ、その結果線状多糖類がその除去後に存在するそのような方法で酵素で処理することにより、他の非線状多糖類の反応からも本発明で記載する微粒子を製造するための線状ポリマーを得ることが可能である。これらの酵素は、例えばアミラーゼ、イソアミラーゼ、グルコノヒドロラーゼ又はプルラーナーゼであってよい。

【0019】

本発明の特に有利な態様において、球状微粒子は、全体的に又は部分的に1, 4- α -D-ポリグルカンから成る。1, 4- α -D-ポリグルカンは、好ましくは多糖類シンターゼ又はデンプンシンターゼ又はグリコシルトランスフェラーゼ又は α -1, 4-グルカントランスフェラーゼ又はグリコーゲンシンターゼ又はアミロスクラーゼ又はホスホリラーゼを用いて生体触媒（生物変換）プロセスにより好ましく製造される。

【0020】

本発明に従って用いられる線状多糖類の分子量Mwは、 10^3 g/mol \sim 10^7 g/molの範囲内で変化する。好ましく用いられる線状多糖類、1, 4- α -D-ポリグルカンに対して好ましく用いられる分子量Mwは、 10^4 g/mol \sim 10^5 g/mol、特に 2×10^4 g/mol \sim 5×10^4 g/molの範囲内である。

【0021】

驚くべきことに以下の内容が見出された；即ち、非常に均一な微粒子が、水不溶性の線状多糖類から非常に簡単な方法により多量に製造でき、そして例えばアミロース又はデンプンのような商業的に入手可能な多糖類からはこの方法で得ることはできない。

【0022】

従って、本発明はまた、少なくとも1種の水不溶性の線状多糖類、特に1, 4- α -D-ポリグルカンから全体的に又は部分的に成る球状微粒子の製造方法に関し、その方法は、水不溶性の線状多糖類又は1, 4- α -D-ポリグルカンを溶媒に溶解し、その溶液を沈殿剤中に導入し、それから生じた混合物を冷却し、

次いで形成した微粒子を取り出す、前記球状微粒子の製造方法である。請求項20～23は、本発明の方法の特に有利な態様を明示する。

【0023】

もう1つの有利な態様において、線状の水不溶性多糖類は、枝分かれした又は高度に枝分かれした多糖類の酵素処理により製造された。

【0024】

ジメチルスルホキシドは、線状多糖類を溶解するための好ましい溶媒である；他の可能な溶媒は、特に：ホルムアミド、アセトアミド、N，N-ジメチルホルムアミド、N，N-ジメチルアセトアミド、水の存在下のN-メチルモルホリンN-オキシド、及び高い又は低いpHを有する他のN-置換モルホリンN-オキシドの水溶液である。

【0025】

水は好ましい沈殿剤であり；方法は、全体的に又は部分的に水を置き換えることのできる他の溶媒、例えばジクロロメタンを用いることにより影響されることができ、特に沈殿プロセスの継続時間及び粒子の表面の組織を制御することが可能である。アルコール、例えばメタノール、エタノール、イソプロパノールと水の混合物は、またプロセスパラメーター及び粒子の性質に影響を与えるために好適である。

【0026】

沈殿プロセス中の温度は、一般に0℃～-10℃の範囲内が好ましいが、しかしより高い温度又はより低い温度も採用できる。

【0027】

沈殿プロセスは、低温で一夜比較的ゆっくり行うことができるか、又は沈殿剤及び温度を変えることにより影響を与えることができる。

【0028】

大きさ、表面の組織等のような、粒子の性質及びプロセス制御に影響を及ぼすために好適な添加剤を用いることも可能である。好適な添加剤の例は、界面活性物質、例えばナトリウムドデシルスルフェート、又はN-メチルグルコンアミド、糖、例えばフルクトース、スクロース、グルコースである。

【0029】

界面活性物質は、アニオン性、カチオン性又は非イオン性であってよい。

界面活性物質の一般的例は：ポリソルベート（例えばTween(登録商標)、アルキルポリグリコールエーテル、エチレンオキシド／プロピレンオキシドブロックコポリマー（例えばPluronic(登録商標)）、アルキルポリグリコールエーテルスルフェート、アルキルスルフェート（例えば既に言及したナトリウムドデシルスルフェート）、脂肪酸グリコールエステルである。添加剤は、沈殿剤に好ましく添加される。

【0030】

溶液中の線状多糖類の濃度は、広い範囲内で変化することができるが、しかし溶媒1ml当たり0.1gの多糖類が好ましい。

【0031】

他の範囲、例えば0.05g/ml～0.2g/ml又は0.02g/ml～0.5g/mlが可能である。

【0032】

本発明に係る粒子は、少なくとも1種の線状多糖類から成ることができそして少なくとも1種の活性物質を含有することができる。表面は、平滑であるか又は粗くてよい。微粒子は、単一の線状多糖類物質、特に1,4- α -D-ポリグルカンから構成できる。しかしながら、もう1つの線状水不溶性多糖類を混合することもできる。他のポリマー、特に他の生物適合性ポリマーもまた使用できる。微粒子の球状の形状及び他の良好な性質を不利に変えることなく混合できる他のポリマー（複数）の量は、常に添加されるポリマーに依存する。それは、10%までであるか又はそれ以上であってよく、そしてある場合にはより少ないであろう。未だ許容できる最大量は、少数の混合試験により容易に決定できる。

【0033】

粒子は、1nm～100 μ m、好ましくは100nm～10 μ m、特に好ましくは1 μ m～3 μ mのような平均直径（数平均）を有することができる。

【0034】

粒子は、（分散度）1.0～10.0、好ましくは1.5～5.0、特に好まし

くは2.0～2.6の直径 d_n に対する d_w の特性を示す：

d_n ＝数平均直径

d_w ＝重量平均直径

本明細書中で用いられている平均は、次のように定義される：

$d_n = \sum n_i \times d_i / \sum n_i$ ＝数平均

$d_w = \sum n_i \times d_i^2 / \sum n_i \times d_i$ ＝重量平均

n_i ＝直径 d_i を有する粒子の数

d_i ＝特定の直径

i ＝連続パラメーター。

【0035】

語句“重量”は、この場合質量を表さず、重みつき平均を表す。より大きい直径は、より大きな意義が与えられ；2の累乗は、より大きい粒子の直径に対してより大きい重みづけを与える。

【0036】

粒子の直径の分布の分散度は、次のように定義される： $D = d_w / d_n$ 。

直径の分布の不均一性は、次のように定義される： $U = d_w / d_n - 1 = D - 1$ 。

【0037】

“0”により近い不均一性の値は、粒子がそれらの粒度分布に関してより均一な形状であることを意味する。

【0038】

微粒子は、多様の用途において、純粋な形態でそのまま又は最も広い意味で活性物質を捕捉することにより、特にそれらの均一な形状及び大きさの理由から好都合に用いることができ、従って例えば以下のように用いることができる：

- －軟膏、打ち粉、クリーム、ペーストなど中の化粧品用の添加剤として、
- －医薬用及び他の用途における活性物質のためのビヒクルとして、
- －例えば、孔を閉じるため又はフラッシュ(Flashses)を平滑にするための平滑剤として、
- －例えば増量成分として又はレオロジー特性を改善するための食品添加剤として

- 、
- 例えば、エマルションポリマーの品質を高めるための添加剤として、
- 例えば、不純物の除去における分離助剤として、
- 封入材料として、
- 磁性粒子のための担体として、
- 性質を制御するために生分解性ポリマー又は工業用ポリマーに対する充填剤として、
- 性質、例えば多孔性、重量、色などの性質を制御するための添加剤として、
- 未知物質の粒度の補正又は決定のための粒子標準品として。

【0039】

個々の活性物質又は活性物質の組み合わせを、例えば以下のリストにおいて見出すことができる：

医薬用活性物質、医薬品、医薬物質、ペプチド、タンパク質、核酸、ワクチン、抗体、ステロイド、オリゴヌクレオチド、調味料 (flavorings)、香料、肥料、農業技術用活性物質例えば農薬、除草剤、殺虫剤、殺カビ剤、特定の性質を有する化学薬品例えば発光物質、乳化剤、界面活性剤、顔料、酸化体、還元体、フラーレン、磁気錯体、例えば常磁性化合物。

【0040】

従って、本発明は活性物質の、例えば除放性の放出制御のために前記の微粒子の使用にも関する。

【0041】

本発明の方法は、非常に簡単な手順である。粒子を製造するためのパラメータは、溶媒対沈殿剤の比率、沈殿プロセス中の温度、溶液の濃度、沈殿剤に対する溶液の添加比率のように、広い範囲内で特定できる。

【0042】

粒子は、それらの大きさ及びそれらの直径の分布の面で非常な均一性を特徴とする。

【0043】

初期ポリマー、例えば1, 4- α -D-ポリグルカンの水中での不溶性は、特

定の有利な応用法を供給し、これは、微粒子が急速に破壊してもなくなり、従って、水がもう1つの成分として存在する製品中で特に有利に使用することもできる。

【0044】

微粒子は、高い機械的応力能(mechanical stressability)に曝されることのできる能力を特徴とする。

【0045】

特に、それらの形態及び均一性のために、粒子は例えば孔に対する平滑作用を有する。

【0046】

好ましく使用される1, 4- α -D-ポリグルカンは、種々の方法で製造できる。非常に有利な方法は、国際出願の国際公開(WO) 95/31553に記載されている。この公報中の開示は、その番号を引用して本明細書に加入される。

【0047】

本発明を以下の実施例により詳しく説明する。

実施例1

1, 4- α -D-ポリグルカンの微粒子の製造

500mgの1, 4- α -D-ポリグルカンを、約70℃で2.5mlのジメチルスルホキシド(DMSO、分析グレード、Riedel-de-Haenから)に溶解する。DMSO溶液を100mlの二回蒸留した水に攪拌しながら滴下し、次いで溶液を5℃で一夜保持する。微細な乳状懸濁液を毎分3500回転で15分間遠心分離し、次いで上澄みをデカントする。沈降物を二回蒸留した水に懸濁し次いで再び遠心分離する。手順をもう二回繰り返す。引き続き懸濁液を凍結乾燥する。311mgの白色の1, 4- α -D-ポリグルカン粒子を得る。これは、無色の微粒子の62%の収率に相当する。

実施例2

植物から単離したアミロースから微粒子を製造する試み

500mgのアミロース(ジャガイモから、EGA-Chemieから)を、約70℃で2.5mlのジメチルスルホキシド(DMSO、分析グレード、Riedel-de-Haenか

ら)に溶解する。DMSO溶液は、高度に粘性である。それを攪拌しながら、100mlの二回蒸留した水に添加し、次いで溶液を5℃で一夜保持する。白色の凝集を引き起こす懸濁液が形成する。更にプロセスを、実施例1に記載のように行う。210.3mgの白色固体を得(42%収率)、そしてこれは非粒状構造を含む。

実施例3

植物から単離したアミロースから微粒子を製造する試み

この試みは、実施例2と同様に行う。Merckにより供給される500mgのアミロース(製造者の供述:“生化学の目的のためのアミロース”)を用いる。一夜放置後、白色の凝集を引き起こす懸濁液が形成した。更なる加工を、実施例1に記載のように行う。60mgの白色固体を得(12%の収率)、これは非常にかさばった形態及び構造を有している。粒状構造は、比較例2と同様にこの比較例において見出されない。

実施例4～8

種々の植物から単離したデンプンから微粒子を製造する試み

500mgのデンプン(規格については表1を参照のこと)を、約70℃で2.5mlのジメチルスルホキシド(DMSO、分析グレード、Riedel-de-Haenから)に溶解する。溶液は、形成しない。混合物は、粘性なゲルを形成する。これらを、100mlの二回蒸留した水に攪拌しながら添加する。ゲルは、この間崩壊する。溶液を5℃で一夜保持する。多数の大きな白色フレークを有する非常に曇った懸濁液が、形成する。更なる加工を実施例1に記載のように行う。実施例の結果を、表1に掲げる。全ての比較例2～8に関して非線状多糖類又は他の出発物質が、実施例1で記載した本発明の結果と非常に異なることは明らかである。例外なく多量の濁り及び／又は大きなフレークの形成がある。

【0048】

粒状の形状に関する構造は、観察できない。加えて、比較例2～8における固体の収率は、明らかに実施例1におけるよりもより小さい。

【0049】

【表1】

表1:

種々のデンプン/DMSO水溶液の沈殿の結果

実施例	デンプンのタイプ	線状多糖類の割合(%)	DMSO溶液のコンシステンシー	5℃で沈殿後の懸濁液のコンシステンシー	最終重量(mg)	収率(%)
1	1,4- α -D-ポリグルカン ^{★1}	100	透明、低粘度溶液	微細、乳状の懸濁液	311.0	62
2	アミロース ^{★2} (EGA-Chemie)	90-100	2日後に溶解、高度に粘性	フレークを有する微細懸濁液	210.3	42
3	アミロース ^{★2} (Merck)	95-100	2日後に溶解、加熱すると非常に粘性	フレークを有する微細懸濁液	60.0	12
4	ジャガイモ Toffena(登録商標) (Suedstaerke)	20	固体ゲル、透明	多量の濁り	分離できない (遠心機)	—
5	コーンスターチ(Merck)	20	粘性なゲル	少量の濁り、大きなフレーク	83.8	17
6	コーンスターチ C(National Starch)	50	粘性なゲル	多量の濁り、小さなフレーク	101.7	20
7	コーンスターチ HVII(National Starch)	70	粘性なゲル	多量の濁り、小さなフレーク	211.1	42
8	エンドウ (Amylose KG)	70	粘性なゲル、曇り	多量の濁り、大きなフレーク	115.9	23

【0050】

★1 水不溶性

★2 水溶性

実施例9 a及びb

1, 4- α -D-ポリグルカンから微粒子の大規模な製造

a) 400 gの1, 4- α -D-ポリグルカン、60℃で1.5時間に亘って2 Lのジメチルスルホキシド(DMSO、分析用、Riedel-de-Haenから)に溶解する。次いで、溶液を室温で1時間攪拌する。溶液を、2時間に亘って攪拌しながら20 Lの二回蒸留した水に滴下漏斗で加える。混合物を4℃で44時間保存する。微細な懸濁液が形成する。最初に上澄みをデカントして粒子を取り出す。沈降物を懸濁し次いで少量ずつ遠心分離する(RC5C超遠心機:各々5分間で毎分5000回転)。固体残渣を二回蒸留した水に懸濁し次いで再び合計3回遠心分離する。固体を採取しそして約1000 mLの上澄みを凍結乾燥する(Chri

st Delta 1-24 KD)。283 gの白色固体を単離する（71%の収率）。

b) 採取した固体を-18℃の温度で一夜保持する。記載したようにプロセスを行う。更に55 gの白色固体を単離する（収率15%）。

【0051】

従って、プロセスの全収率は、無色の微粒子の85%である。

実施例10

微粒子の脱硫

粒子中に存在するジメチルスルホキシドを除去する手順は、以下の通りである。実施例9からの1, 4- α -D-ポリグルカン100 gを、1000 mlの脱イオン水に添加する。混合物を穏やかに攪拌しながら24時間放置する。粒子の取り出しは、実施例9で記載のように行われる（RC5C超遠心機：各々15分間で3000 rpm）。凍結乾燥後の最終重量は、98.3 g（98%の収率）である。元素分析による硫黄の測定により、以下の値を得る（試験方法燃焼及びIR検出）：

実施例9からの粒子の硫黄含量： 6%+/-0.1%

実施例10からの粒子の硫黄含量： <0.01%

実施例11

電子顕微鏡により実施例1～9からの固体の検査

粒子の特性を決定するために、走査電子顕微鏡（SEM）（Camscan S-4）を用いる。検査の結果を表2に掲げる。この表より、水不溶性の線状多糖類（1, 4- α -D-ポリグルカン）の使用の場合にだけ球状微粒子が得られることは明らかである。これに反して、他の最初のポリマーの使用は、分散度が測定できないかさばった綿状のかつ非粒状の形態をもたらす。実施例1において得られる粒子の構造は、図1及び2から明らかである。

【0052】

【表2】

表2:

実施例1～3及び7～9からの固体及び粒子の特性決定

実施例	デンプンのタイプ	線状多糖類の割合(%)	粒子の外観
1	1,4- α -D-ポリグルカン ^{*1}	100	球形の分離した粒子
2	アミロース ^{*2} (EGA Chemie)	90-100	凝集を引き起こす、かさばった、綿状(即ち、分離した粒子なし)
3	アミロース ^{*2} (Merck)	95-100	凝集を引き起こす、かさばった、綿状(即ち、分離した粒子なし)
7	コーン Hylon VII(National Starch Chemistry)	70	凝集を引き起こす、綿状(即ち、分離した粒子なし)
8	エンドウ(Amylose KG)	70	凝集を引き起こす、綿状(即ち、分離した粒子なし)
9a	1,4- α -D-ポリグルカン	100	球形の分離した粒子
9b	1,4- α -D-ポリグルカン	100	球形の分離した粒子

【0053】

★1 水不溶性

★2 水溶性

実施例12

実施例1及び9からの粒子の粒度分布の研究

実施例1及び9からの粒子の粒度分布の特性を決定するためにマスターサイザー(Mastersizer)(Malvern Instrumentsからの)を用いて研究を行う。研究は、 1.080 g/cm^3 の密度及び 0.012% ～ 0.014% の範囲の容積濃度を用いフラウンホーファーモード(Fraunhofer Mode)(評価:多峰形、数)で行う。研究の結果を表3に示すが、それは微粒子の著しい均一性を示している。

【0054】

実施例13

アミロスクラーゼを用い生体触媒プロセスによる1,4- α -D-ポリグルカンのインビトロ製造

20%濃度のスクロース溶液10Lを、滅菌した(蒸気滅菌)15Lの容器の中に入れる。アミロスクラーゼ含有酵素抽出物を一度に加える。この実験での酵素活性は、16単位に達する。装置は同様に滅菌した全てガラスの攪拌機を備えている。容器を閉じてそして攪拌しながら37℃で保持する。白色の沈殿物が、僅か数時間後に形成する。反応を180時間後に停止する。沈殿物を濾

別し次いで水で5回洗滌して低分子量の糖を除く。フィルター中に残存している残渣を、ダイヤフラムポンプ(CVC2, Vacuubrand GmbH & Co)の真空下で40℃の乾燥炉中で乾燥する。塊は、685g(69%の収率)に達する。このようにして得られた1,4- α -D-ポリグルカンは、特性決定及び微粒子の製造のために直接用いることができる。

【0055】

実施例14

実施例13からのアミロスクラーゼで合成された水不溶性1,4- α -D-ポリグルカンの特性決定

実施例13からの1,4- α -D-ポリグルカン2mgを、室温でジメチルスルホキシド(DMSO、分析グレード、Riedel-de-Haenから)に溶解し次いで濾過する(2 μ mフィルター)。溶液の一部をゲル浸透クロマトグラフィーカラムに注入する。DMSOを溶離液として用いる。シグナル強度をRI検出器を用いて測定し次いでプルラン標準品(Polymer Standard Systemsより供給)と比較して評価する。流速は、毎分1.0mlである。

【0056】

測定により、数平均分子量(M_n)14,200g/mol及び重量平均分子量(M_w)29,500g/molを得る。これは、分散度2.1に対応する。

【0057】

【表3】

表3:

実施例1及び9からの粒子直径の特性決定

実施例	直径			粒子分布		
実施例 番号	d_n^{*1} (μ m)	d_w^{*2} (μ m)	d_w/d_n^{*3}	$d(10\%)^{*4}$ (μ m)	$d(50\%)^{*5}$ (μ m)	$d(90\%)^{*6}$ (μ m)
1	1.282	2.692	2.100	0.991	1.263	1.776
9a	1.664	4.184	2.541	0.873	1.504	2.624
9b	0.945	2.345	2.481	0.687	0.871	1.399

【0058】

★¹ d_n : 数平均直径

★² d_w : 重量平均直径

★³ d_w/d_n : 粒子径の分散度

★⁴ $d(10\%)$: 全ての粒子の10%は、定められた値(stated value)
よりも小さい直径を有する

★⁵ $d(50\%)$: 全ての粒子の50%は、定められた値よりも小さい直
径する

★⁶ $d(90\%)$: 全ての粒子の90%は、定められた値よりも小さい直
径を有する

【図1】

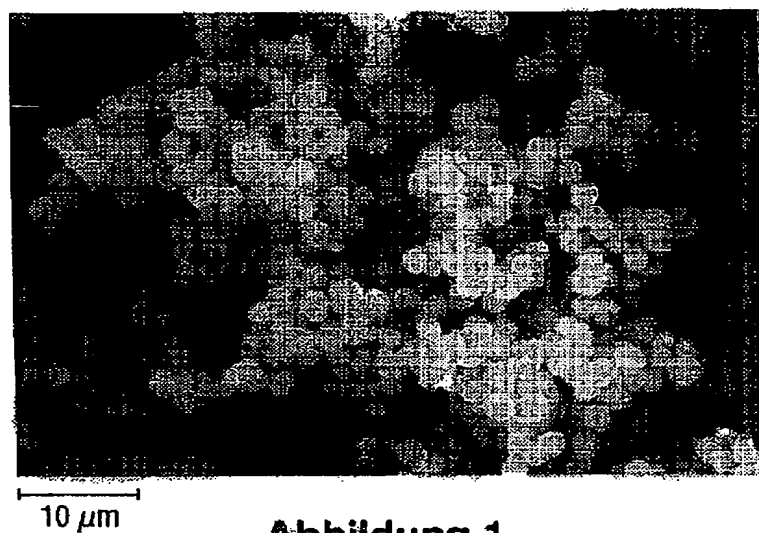
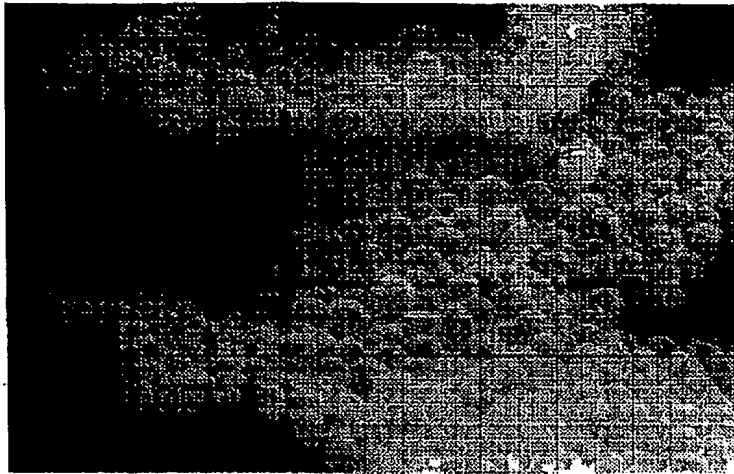


Abbildung 1

【図2】



3 μm

Abbildung 2

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter. Appl. Application No. PCT/EP 98/05297		
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 C08J3/14 A61K9/16 //C08L3/12,C08L5/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 C08J A61K C08B C08L		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages Relevant to claim No.	
X	GB 2 247 242 A (KABUSHIKI KAISHA HAYASHIBARA SEIBUTSU K.K.) 26 February 1992 see page 7, last paragraph; figure 2 see page 9, line 6 - line 7	1-18, 24, 25
X	DE 41 20 760 A (3 M MEDICA) 4 March 1993 see page 2, line 54 - line 56	1-18, 24
X	EP 0 648 115 B (TNO) 4 December 1996 see page 2, line 28 - page 3, line 19	1-18, 24
Y	WO 88 08011 A (BINDSCHAEDLER C. ET AL.) 20 October 1988 see claim 1	1, 18-23
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
11 January 1999	20/01/1999	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Lensen, H	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter. Appl. No.
PCT/EP 98/05297

C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>DATABASE WPI Week 8025 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 10509C XP002089601 & JP 55 001244 B (KAKEN YAKU KAKO) , 12 January 1980 see abstract & CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 94, no. 12, 23 March 1981 Columbus, Ohio, US; abstract no. 90331, HAYASHI ICHIRO ET AL.: "Inclusion compounds of amylose with drugs" see abstract</p>	1,18-23
X	<p>DATABASE WPI Week 7625 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 13758X XP002089602 & JP 51 001372 A (SUMITOMO CHEM CO LTD) , 8 October 1976 see abstract & CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 84, no. 20, 17 May 1976 Columbus, Ohio, US; abstract no. 136876, MIYAMOTO MASATOSHI ET AL.: "Microencapsulation of pullulan or hydroxypropyl pullulan." see abstract</p>	1
A	<p>EP 0 476 063 B (ALPHA BETA TECHNOLOGY) 25 May 1994</p>	1
A	<p>DE 27 37 947 A (SUMITOMO) 2 March 1978 see page 5, line 3 - line 11</p>	
A	<p>US 5 576 015 A (DONZIS BYRON A.) 19 November 1996</p>	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Inter: nal Application No
 PCT/EP 98/05297

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
GB 2247242	A	26-02-1992	JP 4085301 A	18-03-1992
DE 4120760	A	04-03-1993	WO 9300076 A EP 0591284 A JP 6508369 T	07-01-1993 13-04-1994 22-09-1994
EP 648115	B	19-04-1995	NL 9201196 A AU 677591 B AU 4589293 A DE 69306390 D DE 69306390 T EP 0648115 A GR 3022646 T JP 7508532 T US 5629018 A AT 145821 T CA 2139493 A DK 648115 T ES 2096934 T WO 9401091 A	01-02-1994 01-05-1997 31-01-1994 16-01-1997 05-06-1997 19-04-1995 31-05-1997 21-09-1995 13-05-1997 15-12-1996 20-01-1994 02-06-1997 16-03-1997 20-01-1994
WO 8808011	A	20-10-1988	AU 610594 B AU 1680688 A DE 3877678 A DE 3877678 T DK 698688 A EP 0363549 A EP 0309527 A FI 885767 A, B GR 3006969 T IE 62111 B JP 2564386 B JP 1502991 T KR 9602225 B NO 174208 B US 4968350 A	23-05-1991 04-11-1988 04-03-1993 07-10-1993 15-12-1988 18-04-1990 05-04-1989 13-12-1988 30-06-1993 14-12-1994 18-12-1996 12-10-1989 13-02-1996 20-12-1993 06-11-1990
EP 476063	B	25-03-1992	US 5032401 A AT 106013 T AU 5933190 A CA 2059275 A DE 69009185 D EP 0476063 A ES 2053198 T JP 5503285 T WO 9015596 A US 5607677 A US 5741495 A	16-07-1991 15-06-1994 08-01-1991 16-12-1990 30-06-1994 25-03-1992 16-07-1994 03-06-1993 27-12-1990 04-03-1997 21-04-1998
DE 2737947	A	02-03-1978	JP 53026867 A FR 2362888 A GB 1559644 A	13-03-1978 24-03-1978 23-01-1980
US 5576015	A	19-11-1996	US 5702719 A US 5705184 A	30-12-1997 06-01-1998

フロントページの続き

(72)発明者 シュネラー, アルノルト
ドイツ連邦共和国デー64409 メッセル,
ベルリナー・シュトラッセ 37

(72)発明者 ベーム, ギッテ
ドイツ連邦共和国デー60439 フランク
フルト・アム・マイン, イム・ブルグフェ
ルト 243

Fターム(参考) 4C076 AA30 AA31 EE30 EE38 FF31
GG02
4F070 AA01 AB11 DA22 DC07 DC16
4J002 AB051 AB052 AD002 GA00
GB00



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.